

ESTUDIO DE LA CINETICA DE LA PREESPERMATOGENESIS
Y ESPERMATOGENESIS EN EL HAMSTER DORADO
(*MESOCRICETUS AURATUS* WATERHOUSE) (CRICETINAE)

KINETIC STUDY OF PRESPERMATOGENESIS
AND SPERMATOGENESIS IN THE GOLDEN HAMSTER
(*MESOCRICETUS AURATUS* WATERHOUSE) (CRICETINAE)

D. Brown¹; E. Bustos-Obregón¹ y J. Arrau²

RESUMEN

En este trabajo se hace una descripción histológica de los cordones y túbulos seminíferos de hamster dorado (*Mesocricetus auratus* Waterhouse) a diferentes intervalos entre 1 y 105 días después del nacimiento. Se hace un análisis cuantitativo del diámetro, de la línea germinal y de las células de pre Sertoli y de Sertoli.

Los cordones, luego de una disminución después del nacimiento, experimentan un aumento notorio de diámetro, coincidiendo con la aparición de lumen tubular a los 20 días.

Dentro de la línea germinal se distinguen preespermatozonias 1, cuyo mayor número al nacimiento va disminuyendo hasta estar ausentes a los 15 días; preespermatozonias 2, que incrementan hasta un máximo a los 10 días y que se corresponderían con espermatozonias A indiferenciadas. Las espermatozonias A, In y B presentan promedios normales propios del adulto (105 días) desde los 15 días. Los espermatozitos en preleptoteno, leptoteno, zigoteno y en paquiteno muestran valores normales desde 20, 25 y 35 días, respectivamente. Las espermátidas redondas tienen valores en incremento desde los 31 días, y las elongadas desde los 35 días.

La cinética de la línea germinal espermatozónica se establece y empieza a funcionar en forma continua desde temprano y cada generación celular va adquiriendo su equilibrio en el tiempo, dependiendo directamente de aquellas que le han precedido.

Por otra parte, las células de pre Sertoli y Sertoli sufren cambios citomorfológicos y posicionales que llevan a los 20 días al establecimiento de sus núcleos típicos cercanos a la membrana basal del túbulo seminífero recién formado.

Palabras claves: Tesis, análisis cuantitativo, célula germinal, célula Sertoli.

ABSTRACT

The present work is a histological description of the seminiferous cords and tubules of the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) at different ages between 1 and 105 days after birth. A quantitative analysis of the diameter, of the germinal cell line and of the pre Sertoli and Sertoli cells is done.

The cords, after decreasing shortly after birth, show great increase in diameter, coinciding with the formation of the tubular lumen at 20 days of age.

Among the germinal cell line there are prespermatogonia 1, which number, considerable at birth, decreases until disappearing by 15 days; prespermatogonia 2, that increase up to a maximum number by 10 days and may correspond to the undifferentiated type A spermatogonia. Type A, In and B spermatogonia show normal averages, characteristic of the adult (105 days) from 15 days post natal. Preleptotene, leptotene, zygotene and pachytene spermatocytes show normal values from 20, 25 and 35 days, respectively. Round spermatids attain increasing values from 31 days, and the elongated, from 35 days.

The kinetic of the germinal cell line is established and continuously functioning early in life; each cell generation attains an equilibrium in time, depending on the precursor cell lines.

Additionally pre Sertoli and Sertoli cells show cytomorphological and positional changes so that their typical nuclei move close to the newly formed seminiferous tubule basement membrane.

KEYWORDS: Tesis, germ cell, quantitative analysis, Sertoli cell.

INTRODUCCION

Dentro de los mamíferos Eutheria se encuentra el gran Orden Rodentia con unas 1.700 especies (Remane, A., V. Storch y U. Welsch, 1980). Comprende, entre varios, al Suborden Myomorpha que incluye a la Familia Cricetidae, animales que son principalmente políes-

¹Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

Dirección Postal: Casilla 70061, Correo 7. Santiago, Chile.

²Laboratorio de Endocrinología, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

tricos con ovulación espontánea durante todo el año, sobre todo en condiciones de laboratorio. Es precisamente en la Subfamilia Cricetinae que se encuentran los hamster cavadores y acumuladores de alimento en Europa, Asia y Africa (Remane, A. *et al.*, 1980). Ellos son usados ampliamente en experimentación y, aunque se reúnen bajo el mismo nombre, pertenecen a géneros diferentes que muestran marcadas diferencias. Así el hamster chino, *Cricetulus barabensis* Pallas (gris o listado), cuyas colonias se encuentran actualmente en E.E.UU., posee un número cromosómico $2n=22$ (Hafez, E.S.E., 1970); sus hembras alcanzan la pubertad en 8 a 12 semanas y el período de gestación es de 20,5 días. Sin embargo, el hamster dorado o sirio, *Mesocricetus auratus* Waterhouse, con $2n=44$, alcanza la pubertad en 4 a 6 semanas. A las 5 y media semanas la mayoría de los túbulos seminíferos tienen espermatozoides, pero éstos aún no aparecen en el epidídimo (Asdell, S.A., 1964).

Gran parte de los antecedentes de espermatogénesis en hamster proviene de investigaciones realizadas en animales adultos. Leblond, C.P. and Y. Clermont (1952) hacen la descripción de la "espermiogénesis" en el hamster junto a otros roedores utilizando la técnica del ácido peryódico-fucsina ácido sulfuroso; pero no aclaran si la especie estudiada es *Cricetus cricetus* L., cuyo nombre vulgar es hamster, con un tiempo de gestación de 20 a 22 días (Asdell, S.A., 1964), y con un número cromosómico $2n=22$ (Hafez, E.S.E., 1970).

Por otra parte Clermont, Y. (1954) describe un ciclo del epitelio seminífero subdividido en 13 estadios, y mediante un análisis cuantitativo de la renovación espermatogonial en hamster (esta vez *Cricetus auratus*), infiere un patrón de renovación celular similar a otros roedores con espermatogonias A_1 - A_2 - A_3 que se dividen en estadios X-XIII-II, respectivamente, gonias intermedias (I_n) que se dividen en estadio IV para producir gonias B, las cuales originan espermatocitos preleptoteno en estadio VI. Curiosamente, las nuevas células troncales se originarían de mitosis bivalentes en estadio XIII. De Rooij D.G. & M.F. Kramer (1968) en un estudio de la renovación de células troncales espermatogoniales utilizando el agente alquilante Myleran (que produce depleción selectiva en las poblaciones celulares espermato-

goniales cuando se administra en dosis adecuada), precisan que las gonias A_1 troncales se originan a partir de división de gonias A_3 en estadio I del ciclo.

Otro aspecto analizado en la literatura es la duración del ciclo del epitelio seminífero en los cricétidos. Clermont, Y. and M. Trott (1969) calculan para el hamster sirio (*Mesocricetus auratus* = hamster dorado o sirio según Hafez, E.S.E., 1970) una duración de 8,74 días, mediante el uso de timidina tritiada como sustancia trazadora y técnica autorradiográfica; y 35 días para el proceso de espermatogénesis total. Nuevamente, las diferencias interespecíficas se manifiestan en el hamster chino (*Cricetulus barabensis*); Oud, J.L. and D.G. de Rooij, (1977) determinan una duración del ciclo del epitelio seminífero extremadamente larga (17 días) utilizando las mismas técnicas y una espermiogénesis de 16 estados. En hamster chino la generación que surge en estadio IV (B_1) es seguida por otra (B_2), que es la proveniente de B_1 en VII. Este trabajo forma parte de una serie de investigaciones (Lok, D., D. Weenk and D.G. de Rooij, 1982; De Rooij, D.G., D. Lok and D. Weenk, 1985) que hacen vigente para hamster chino la cinética de la renovación espermatogonial y su mecanismo de regulación, tratando de aclarar si las gonias A_1 se renuevan a partir de mitosis bivalentes de la última generación de gonias A al mismo tiempo que originan a gonias I_n (como en el modelo de Clermont, Y. y Bustos-Obregón, E., 1968, para rata); o que las gonias A surgen de gonias A indiferenciadas del tipo alineadas que se autorrenuevan (según HucKins para rata y Oakberg y De Rooij para ratón; citado por Oud *et al.*, 1977). El punto de controversia es si las gonias A alineadas forman una clase distinta, que por diferenciación dan origen a las gonias A_1 . Los antecedentes apuntan a la posibilidad de un mecanismo de retroalimentación negativa por medio de chalonas espermatogoniales, E. Bustos-Obregón, 1984, en que las gonias I_n serían capaces de producir una sustancia inhibidora que impediría la proliferación activa de las gonias indiferenciadas (De Rooij *et al.*, 1985).

Sin embargo los trabajos acerca del desarrollo reproductivo en hamster son escasos. Darrow, J.M., F.C. Davis, J.A. Elliot, M.H. Stetson, F.W. Turek and M. Menaker (1980),

analizan la influencia del fotoperíodo sobre pesos gonadales y órganos accesorios, determinando que el comienzo de la pubertad en *M. auratus* no está controlado por el fotoperíodo. Hay también diferencias interespecíficas en la sensibilidad al fotoperíodo dado que en el hamster húngaro-*Phodopus sungorus* (número cromosómico $2n=28$, Hafez, E.S.E., 1970), la maduración sexual es dramáticamente retardada por exposición temprana a fotoperíodo de días cortos (Brackmann y Hoffman, 1977; Hoffman, 1978; citados por Darrow *et al.*, 1980).

Por otra parte, Gondos, B., D.C. Paup, J. Ross and R.A. Gorski (1974) hacen una breve cronología de la diferenciación de la célula de Leydig en el testículo de hamster fetal y postnatal, destacándose su evolución desde los 12-13 días de gestación, con regresión hacia los 4 días postnatal. Durante este período existiría actividad androgénica con células de Leydig totalmente diferenciadas, actividad posiblemente asociada con la diferenciación sexual del sistema nervioso central.

Estudios realizados por Vomachka, A.J. y G.S. Greenwald (1979) en relación con los patrones de desarrollo de los niveles de LH y FSH séricas en *M. auratus* prepuberales machos y hembras muestran que estas gonadotrofinas aumentan mucho más temprano en las hembras, lo cual se refleja en la edad de maduración sexual. Así, la ovulación ocurre 10 días antes de la aparición de espermatozoides móviles en el epidídimo. La progesterona aumenta después de los 30 días, al igual que los andrógenos séricos, aumentando rápidamente hasta exceder los niveles del adulto para el día 50.

Berkowitz, A.S. y J.J. Heindel (1984), basados en que la célula de Sertoli es la célula blanco para FSH en el testículo, tratan de demostrar que el desarrollo del sistema reproductivo del estado inmaduro al maduro es similar a los cambios que ocurren durante la recrudescencia de testículos regresados. El hecho que hay una restauración de la respuesta de las células de Sertoli a FSH durante la regresión y pérdida de respuesta durante la recrudescencia; sugiere que esa pérdida de respuesta es un evento fisiológicamente impor-

tante en la iniciación y reiniciación de la espermatogénesis.

Finalmente, a pesar de toda esta información, faltan las investigaciones descriptivas y cinéticas de la línea germinal masculina durante la preespermatogénesis y espermatogénesis, como así mismo la cronología de las diferentes generaciones celulares que se suceden en el epitelio, que llevan a la instauración de la línea germinal completa y por consiguiente a la espermatogénesis funcional en hamster dorado. Wartenberg, H. (1981), respecto del desarrollo de testículos en hamster dorado, reconoce pro o preespermatogonias-M (que se multiplican mitóticamente) en cordones testiculares en el día 15 postcoito al igual que en el día del nacimiento; pro o preespermatogonias T_1 (células transicionales de reposo en el día 4 postnatal); pro o preespermatogonias T_2 (las mismas T_1 que proliferan luego de período de reposo) a los 8 días postnatal, las que aún permanecen a los 13 días contactando la membrana basal; y espermatogonias "T" (debieran ser A) a los 16 días postnatal, por transformación de las preespermatogonias T_2 . El mismo autor destaca un paralelismo pronunciado entre la diferenciación de las células germinales masculinas y femeninas característico del período pre y postnatal, como también pretende avalar la idea de un sistema de células de Sertoli dual, en que las células de soporte oscuras y claras ejercen un efecto estimulador o inhibitorio en las células germinales por medio de contacto celular inmediato o influencia directa de alguna sustancia. Tal sustancia actuaría positivamente en la proliferación mitótica de las preespermatogonias y, por otra parte, impediría el inicio de la meiosis.

El presente trabajo es un estudio de diferentes aspectos que caracterizan cronológicamente el proceso de preespermatogénesis y espermatogénesis, tales como el diámetro de cordones o túbulos seminíferos, reconocimiento morfológico de los diferentes tipos celulares de la línea germinal y células de soporte y su cuantificación. Esto permitirá una aproximación a la cinética de la preespermatogénesis y espermatogénesis en el hamster dorado *Mesocricetus auratus* Waterhouse.

MATERIALES Y METODOS

Cinética de la preespermatogénesis y espermatogénesis

Una serie de hamster dorado *Mesocricetus auratus* (W.) machos se sacrificaron en número de dos para cada una de las siguientes edades después del nacimiento: 1-3-5-7-10-12-14-15-16-17-17,5-18-20-25-31-35-40-105 días. Los testículos se extrajeron y fijaron en Bouin Holandese. Se incluyeron en Paraplast y se realizaron secciones de 6 μm de espesor de la porción central, transversales al eje mayor del testículo. Las secciones se tiñeron con la técnica corriente hematoxilina-eosina y con PAS-hematoxilina.

El análisis histológico incluyó la medición de diámetros en 100 secciones circulares de cordón o túbulo seminífero. Los resultados se expresaron como promedio \pm desviación standard (\pm D.S.). Se reconocieron y tipificaron de acuerdo a sus características de tamaño y morfología nuclear; preespermatogonias, espermatogonias A, In, B, espermatoцитos primarios, espermatoцитos secundarios, espermátidas redondas, espermátidas elongadas y células sustentaculares o de Sertoli. Estos dos últimos tipos celulares no se midieron dada la heterogeneidad en su morfología nuclear, y por lo tanto sus promedios se presentan como valores crudos. Se cuantificaron estos diferentes tipos celulares en un total de 50 secciones circulares de cordones o túbulos seminíferos de acuerdo a su aparición a las edades de 1-3-5-7-10-15-20-25-31-35-40-105 días postnatal y de acuerdo con el estado del ciclo del epitelio seminífero, cuando fue posible su reconocimiento en relación con la evolución de los primeros estados de la espermiogénesis (Leblond, C.L. e Y. Clermont, 1952) y con las generaciones celulares de cada asociación celular que caracterizan cada uno de los diferentes 13 estadios del ciclo del epitelio seminífero (Clermont, Y y M. Trott, 1969). Los resultados se presentan como promedios totales crudos \pm desviación standard y corregidos por el factor de corrección de Abercrombie, M. (1946) \pm desviación standard.

Se determinaron además los índices mitóticos para cada tipo de preespermatogonia, espermatogonia y células sustentaculares o de

Sertoli, según corresponda para cada edad, y el porcentaje total de células en necrosis de acuerdo con presencia de núcleos picnóticos y en relación al total de células contadas en las secciones circulares.

Análisis estadístico

Los tamaños celulares relativos a longitud de preespermatogonias y espermatogonias A fueron comparados aplicando análisis de varianza (ANOVA). Las diferencias se consideraron significativas para un $p < 0,05$.

El mismo análisis y grado de significancia se usó para comparar a diferentes edades postnatal los promedios de espermatogonias A, In y B; espermatoцитos en preleptoteno, leptoteno, zigoteno, paquiteno y espermátidas redondas.

RESULTADOS

Variaciones de diámetro de cordones y túbulos seminíferos

Los cambios que experimenta el diámetro de los cordones y túbulos seminíferos en testículo de hamster dorado a diferentes edades después del nacimiento se pueden apreciar en la Tabla 1 y el Gráfico 1. Los valores fluctúan entre 44,37 y 249,7 μm . El promedio mayor corresponde a los animales de 105 días, considerados adultos. El Gráfico 1 destaca la tendencia de las fluctuaciones y muestra que el menor diámetro corresponde a cordones sexuales en testículos de animales de 12 días postnatal (12 d.p.n.). A la edad de 1 día, por el contrario, los cordones tienen 59,81 μm de sección, decreciendo hasta alcanzar el mínimo; desde esta edad incrementan hasta el máximo observable a los 105 días.

Si se observan los datos en la Tabla I, a partir de los 12 días el aumento es gradual hasta los 17,5 días. Luego hay un notable incremento en 10 μm inmediatamente hacia los 20 días, hecho que coincide con la primera manifestación de lumen tubular (Fig. 6). Un nuevo incremento más notorio, de aproximadamente 40 μm hacia los 25 días, ocurre concomitante con una mayor dispersión en los valores individuales (D.S. = $\pm 12,59$). El cambio es muy evidente hacia los 35-40 d.p.n. y

Tabla I

DIAMETROS EN SECCIONES TRANSVERSALES DE CORDONES Y TUBULOS SEMINIFEROS EN TESTICULOS DE HAMSTER DORADO A DIFERENTES EDADES DESPUES DEL NACIMIENTO

Edad (Días)	Número de Secciones	Diámetro promedio ($\mu\text{m} \pm \text{D.S.}$)
1	100	59,81 \pm 6,58
3	100	54,36 \pm 5,94
5	200	53,03 \pm 4,89
7	100	48,23 \pm 5,67
10	200	47,28 \pm 5,34
12	100	44,37 \pm 4,14
14	100	46,29 \pm 3,97
15	300	51,14 \pm 7,28
16	100	56,50 \pm 6,05
17	100	60,66 \pm 5,08
17,5	200	57,12 \pm 5,56
18	100	67,43 \pm 6,48
20	200	67,14 \pm 6,74
25	200	106,35 \pm 12,59
31	100	124,70 \pm 16,17
35	100	180,46 \pm 17,00
40	100	163,41 \pm 17,19
105	100	249,7 \pm 25,08

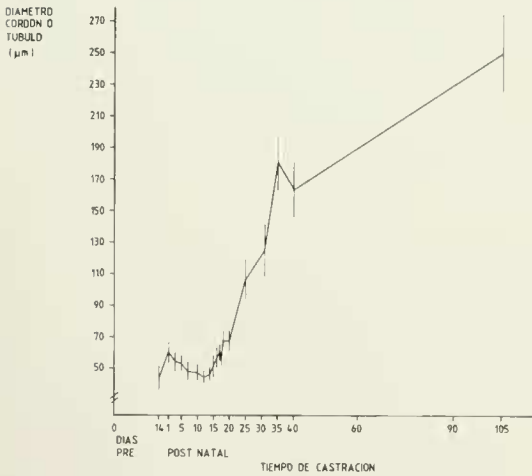


GRAFICO I: Variaciones del diámetro en cordones sexuales y túbulos seminíferos en función de la edad de hamster dorado *M. auratus*. Los valores en el gráfico corresponden a promedios \pm Desviación standard (Barra vertical).

más aún desde esta edad hasta los 105 días p.n. Si se observa la Lámina I y las Figuras en el orden correspondiente, se aprecian estos cambios cordonaes y tubulares, junto con las va-

riaciones morfológicas pertinentes a esta pro-gresión.

Distribución y características de las células a diferentes edades durante el desarrollo de la preespermatogénesis y espermatogénesis

En este trabajo, las primeras células de la línea germinal observadas en cordones sexuales de hamster dorado, luego del nacimiento, han sido llamadas preespermatogonias 1 (Lám. I, Fig. 1; Lám. II, Figs. 10, 11, 13, 18). Son células de citoplasma amplio, de límites definidos, ligeramente PAS (+). Las caracteriza haciéndolas fácilmente identificable, su núcleo grande de casi 10 μm (Tabla II), sólo comparable en tamaño a citos en paquitenio avanzado o diploteno. Su forma es ovoidal, con leve tendencia a la esfericidad, y en general sus límites son poco netos. En estos núcleos pálidos la cromatina, homogénea y muy fina, tiene aspecto pulverulento, destacándose normalmente dos masas perinucleares intensamente teñidas. Una de contornos más precisos, destacada a veces por la presencia de un halo claro, tenue, correspondería al nucléolo. Estas células están preferentemente en posición central en los cordones seminíferos; encontrándose también en la periferia, aunque sin seguir una dinámica clara de distribución en relación con la edad. Se las encuentra desde 2 a 10 días p.n. (Tabla IV, Fig. 13).

El otro tipo celular, que ha sido llamado preespermatoгония 2, se caracteriza por un citoplasma menos abundante, más basófilo y homogéneo. El núcleo, que presenta mayor basofilia, es de menor tamaño que las anteriores (aproximadamente 8 μm , Tabla II) y tiene sus límites bien definidos. La cromatina es granular, hay un nucléolo excéntrico y dos a tres masas de heterocromatina perinuclear. Es posible encontrarlas con frecuencia en pares en las porciones menos redondeadas de los cordones sexuales, en posición generalmente basal (Fig. 13). En relación con su ubicación y tamaño, guardan bastante similitud con las clásicas gonias A, de estados avanzados del ciclo del epitelio seminífero. Aunque estas células se encuentran desde un comienzo, son

más abundantes hacia los 10 días de desarrollo postnatal (Tabla IV; Figs. 10, 11, 12, 13, 18).

Las gonias A (Fig. 14), In (Fig. 5), y B (Fig. 5) tienen las características típicas de estas células ya descritas para otros roedores (Clermont, Y., 1972). Es posible encontrarlas desde los 15 d.p.n., y aunque a veces no están estrechamente asociadas con la membrana basal del cordón sexual (como lo están en los túbulos seminíferos de los adultos), el tamaño de sus núcleos es muy similar. Compárense las Tablas II y III, que resumen las mediciones realizadas en la línea germinal de la espermatogénesis prepuberal y del adulto, respectivamente.

Asimismo, los citos I y II presentan tamaños y características citomorfológicas similares durante la etapa prepuberal y adulta (Tablas II y III, respectivamente). Sin embargo, durante la etapa prepuberal, los citos I preleptoténicos precoces, muestran un núcleo pálido con grumos de cromatina filamentos repartida en forma heterogénea, dejando grandes espacios (Fig. 16), aspecto que también comparten los citos paquiténicos y cuyos tamaños son comparables a paquitenos de los primeros estados del ciclo del epitelio seminífero. Los citos ya están presentes a los 15 días, hasta el estado de zigoteno (Fig. 17) de la larga profase meiótica; paquitenos a los 20 días p.n. (Fig. 6)

y diplotenos-diacinesis a los 31 d.p.n. (Tabla IV).

Las espermatídas, identificadas de acuerdo con la descripción de la espermiogénesis para hamster dorado de Leblond C.P. e Y. Clermont (1952), se observaron desde los 31 días, en que aparecen espermatídas redondas y muy infrecuentemente espermatídas elongadas (Tabla IV; Fig. 8). Así, a la edad de 31 días es posible encontrar línea germinal completa aunque con promedios celulares disminuidos para la última generación de espermatoцитos.

Por su parte, las células de la línea somática dentro de los cordones sexuales y tubos seminíferos, en este trabajo llamadas preSertoli y Sertoli, respectivamente, también sufren cambios citomorfológicos y posicionales. PreSertoli se caracteriza por límites celulares poco definidos: su núcleo tiene un tamaño y forma relativamente variable, tendiendo a la forma ovoidal, la cromatina tiene un aspecto granular fino, con 4 a 5 masas heterocromáticas asociadas a la membrana nuclear, lo que ayuda a dar límites bien definidos a esta estructura. El nucléolo se presenta más bien excéntrico y basófilo, a veces confundiendo con zonas heterocromáticas (Figs. I-II-12). Estas células, que se observan desde el nacimiento hasta los 20 días de edad, presentan sus núcleos orientados con su eje mayor paralelo a la

Tabla II
TAMAÑOS NUCLEARES DE LOS DIFERENTES TIPOS CELULARES EN LA LINEA GERMINAL MASCULINA PREESPERMATOGENICA DE HAMSTER DORADO

Tipos celulares	Largo ($\mu\text{m} \pm \text{D.S.}$)	Ancho ($\mu\text{m} \pm \text{D.S.}$)	Nº Células
Preespermatogonias 1 (a)	9,734 \pm 1,114	7,486 \pm 0,778	50
Preespermatogonias 2 (b)	8,378 \pm 1,067	5,38 \pm 0,931	50
Espermatogonias prepuberales			
A (b)	8,236 \pm 1,123	5,887 \pm 0,924	50
In	6,724 \pm 0,962	5,161 \pm 0,812	50
B	6,57 \pm 0,875	5,445 \pm 0,830	50
Espermatoцитos prepuberales			
PL	5,714 \pm 0,442		50
L	6,418 \pm 0,517		50
Z	6,722 \pm 0,673		50
P	7,226 \pm 0,623		50
D	9,7 \pm 0,471		50
Espermatídas redondas	5,372 \pm 0,233		50

(a) (b) Letras iguales indican falta de diferencia estadística entre promedios (referidos sólo a largo) de los tipos celulares analizados. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tabla III
TAMAÑOS NUCLEARES DE LOS DIFERENTES TIPOS CELULARES EN LA LINEA
GERMINAL ESPERMATOGENICA DE HAMSTER DORADO

Tipos celulares		Largo ($\mu\text{m} \pm \text{D.S.}$)	Ancho ($\mu\text{m} \pm \text{D.S.}$)	Nº células
Espermatogonias	A*	8,167 \pm 1,422	5,024 \pm 0,980	70
	In	6,81 \pm 0,714	4,88 \pm 0,832	50
	B	6,35 \pm 0,681	4,721 \pm 0,577	50
Espermatocitos	PL	5,444 \pm 0,368		75
	L	6,158 \pm 0,423		50
	Z	6,442 \pm 0,678		50
Estados I-II-III-IV-V	P	6,968 \pm 0,774		50
	P	8,484 \pm 0,745		50
VII-VIII	P	8,346 \pm 0,625		50
IX-X-XI-XII	P	9,434 \pm 0,740		50
Promedio I-XII	P	8,308 \pm 1,137		
	D	9,39 \pm 0,923		40
Espermátidas redondas		5,428 \pm 0,374		80

*Diferencia significativa ($p < 0,05$) respecto a Preespermatogonia 1 (Tabla I).

membrana basal en un primer momento (1-5 d.p.n.; Figs. 1-2-10); luego se ubican perpendicularmente a ésta (7-10 d.p.n.; Figs. 12-13), y finalmente se ven desplazados hacia el centro (15-20 d.p.n.; Figs. 14-15-16). A los 20 días, sus núcleos son más pálidos, las masas heterocromáticas no son evidentes, el nucléolo es menos basófilo y tiende a ocupar una posición central, adquiriendo el aspecto propio de Sertoli a esta edad. Este hecho coincide con la observación de los primeros indicios de lumen tubular (Fig. 6).

A los 25 días después del nacimiento se observan células con núcleos típicos de Sertoli, los que se encuentran inmediatos a la membrana basal, con su eje mayor generalmente paralelo a ella.

Rodeando a los cordones sexuales se estructura el compartimento peritubular a base de células de núcleos alargados y prominentes (Fig. 18) de cromatina fina, poco teñida: presentándose éstas hasta en dos capas intercaladas (Fig. 1). Son comunes sus figuras mitóticas a los 3 d.p.n. Las células se van aplanando y adoptando características fusiformes definitivas de células miodes hacia los 17 d.p.n., en que también la membrana basal está bien constituida, mostrando una reacción PAS evidente (Fig. 16).

En el compartimento intersticial las células

precursoras de Leydig son indistinguibles de otros elementos celulares del intersticio y es común observar células en división a los 3-5 días de edad. Al aumentar la edad, van apareciendo células con núcleos ovoides (desde 7 d.p.n.), que tienden a la forma esférica y con citoplasma prominente (desde 10 d.p.n.). Estas células, con todo el aspecto de células de Leydig, empiezan a aparecer asociadas a vasos sanguíneos. A los 20 días de edad se observa un intersticio bien constituido (Figs. 6-26).

Cinética de las células germinales en los cordones sexuales y en los túbulos seminíferos en desarrollo

El número de células por sección circular de cordón o túbulo seminífero está resumido en la Tabla IV.

La mayor cantidad de preespermatogonias 1 se observa el día 1 del nacimiento, experimentando una disminución hasta desaparecer a los 15 días. Recíprocamente, las preespermatogonias 2 incrementan su número desde el nacimiento hasta su valor máximo a los 10 días postnatal. Este tipo celular ha desaparecido y ha sido reemplazado por las espermatogonias A que ya iniciaron la cadena de diferenciación a In y B (Tabla IV). Si se observa la Tabla V, que resume los valores de índice

Tabla IV
 NUMERO DE CELULAS POR SECCION CIRCULAR DE CORDON O TUBULO SEMINIFERO EN TESTICULOS DE HAMSTER DORADO
 DE DIFERENTES EDADES. PROMEDIOS CORREGIDOS (\pm D.S.)

Edad (Dias)	Células PreSertoli o Sertoli*	Preespermatozonias			Espermatozonias			Espermatozonios				Espermátidas		
		1	2	A	In	B	PL	L	Z	P	D	Redondas	Elongadas*	
1	15,82 (1,12)	4,28 (0,43)	0,25 (0,43)	1,77 (0,92)	3,62 (2,14)	5,39 (3,95)	11,84 (3,77)	+2,57 (0,73)	0,94 **					
3	3,08 16,74 2,15	0,58 (0,68)	0,58 (0,58)	+1,98 (1,02)	+4,76 (2,04)	+5,77 (3,18)	+13,18 (4,66)	+5,40 (3,02)	+4,61 (2,65)	+4,19 (2,84)				
5	2,98 17,08 2,96	0,91 (0,77)	0,91 (0,77)	1,87 (0,85)	5,09 (1,99)	9,28 (3,76)	23,51 (11,08)	24,30 (3,32)	20,20 (8,34)	+9,09 (6,78)		0,52 **		
7	3,67 15,1 2,30	0,86 (0,47)	2,27 (0,59)	1,94 (0,73)	5,33 (1,83)	10,19 (2,81)	23,42 (7,38)	20,23 (5,74)	17,19 (3,81)	+15,10 (5,47)	1,52 **		1,84 (3,99)	
10	16,64 2,40 17,1	0,36 (0,38)	3,26 (0,69)	1,79 (0,92)	5,07 (1,74)	8,77 (3,08)	25,37 (8,73)	23,47 (6,57)	26,87 (9,30)	28,37 (4,94)	7,18 (7,40)		+57,71 (33,66)	
20	5,21 25,88 4,13			1,88 (0,85)	6,62 (1,39)	11,47 **	25,12 (5,43)	25,74 (2,50)	24,85 (3,42)	24,48 (3,96)	4,96 (3,54)		36,91 (20,50)	
25	3,94 15,52 3,57			1,51 (1,03)	4,59 (1,29)	8,98 (3,21)	19,62 (8,57)	23,48 (3,73)	24,07 (3,89)	26,36 (5,23)	18,71 **		+82,18 (31,22)	
31	3,13 24,04 4,60													
35	19,18 3,94 15,52													
40	3,94 15,52 3,57													
105	3,57													

*Sin corregir.
 **Este y todos los valores que aparecen sin desviación estándar corresponden a recuentos celulares realizados en sólo una sección circular.
 +Indica diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) de los promedios por edades respecto a los 105 días.

Tabla V
INDICE MITOTICO DE LOS DIFERENTES TIPOS CELULARES Y PORCENTAJE TOTAL DE NECROSIS CELULAR EN LA LINEA GERMINAL MASCULINA DE HAMSTER DORADO A DIFERENTES EDADES

Edad (Días)	Indice Mitótico						Necrosis % de células en necrosis
	Células preSertoli o Sertoli	Preespermatogonias		Espermatogonias			
		1	2	A	In	B	
1	0,031	0,007					0,68
3	0,028	0,034					0,25
5	0,019	0,010					0,3
7	0,001	0,252					0,44
10	—°—	0,318	0,045				0,57
15				0,072	0,056	0,016	0,6
20				0,109	0,127	0,100	0,8
25				0,044	0,126	0,107	1,3
31				0,041		0,043	1,4
35				0,040	0,079	0,132	0,1
40				0,009	0,121		0,3
105				0,084	0,016	0,188	

mitótico de los diferentes tipos celulares; se puede apreciar que son mayores para espermatogonias 1 a los 7 y 10 días postnatal y mucho menores para preespermatogonias 2 a los 10 días. Los porcentajes de células en necrosis que se aprecian en la misma Tabla corresponden a valores bajos pero con mayor porcentaje a 1 y 10 días postnatal (0,68 y 0,57%, respectivamente).

Como ya se indicó, a los 15 días del nacimiento ocurre un cambio notable en la línea germinal con la aparición de las gonias A, In y B como asimismo citos I en preleptoteno, leptoteno y zigoteno (Tabla IV). Desde esta edad las gonias A mantienen sus valores promedios con pequeñas fluctuaciones, similares al correspondiente a animales de 105 días postnatal (Tabla IV). Aparentemente, las gonias In presentan su valor más bajo a los 15 días (3,62), pero la diferencia no es significativa, al comparar con las cantidades del adulto a los 105 días (4,59, Tabla IV). Lo mismo se puede observar para las gonias B. Los índices mitóticos de gonias A, In y B que se muestran en la Tabla V son heterogéneos en relación con la edad de los animales. En general, se observa la tendencia a mayores índices mitóticos para gonias In y B.

Los citos preleptoteno y leptoteno que aparecen en número significativamente menor a

los 15 días, incrementan hasta valores propios del adulto desde los 20 días y 25 días, respectivamente (Tabla IV). Por su parte los citos en zigoteno que aparecen a los 20 días, presentan también valores inferiores al promedio para el estado adulto, el que se alcanza ya a los 25 días (Tabla IV). Los citos paquiténicos aparecen a los 20 días, logrando cantidades similares al adulto desde los 35 días. Cabe destacar que los promedios de gonias A, In y B observados a los 20 días, son significativamente diferentes a los presentados por los adultos a los 105 días. Los citos en diploteno-diacinesis corresponden a un estado muy fugaz y culmine de la profase meiótica. Siempre se los encontrará asociados con algunas de las fases siguientes de este proceso de división y su producto, las espermátidas redondas recién generadas. Sus promedios son fluctuantes y aparecen por primera vez a los 31 días postnatal (Tabla IV). Si se analiza el porcentaje de necrosis celular, se observa que viene en aumento desde los intervalos anteriores; a los 25 días es uno de los más altos (1,3%; Tabla V). Condensaciones picnóticas afectan a núcleos de los citos I en profase meiótica, preferentemente a los paquitenos (Figs. 6-7). Esta situación se mantiene alrededor de los 31 días (Fig. 26).

Finalmente, se observa la población de espermátidas con sus diferentes generaciones

en fase de Golgi (Fig. 20), capuchón (Figs. 21-22), acrosómica (Figs. 23-24) y de maduración (Figs. 20-21-22-23). En esta oportunidad, a pesar de haber sido identificadas y cuantificadas cada una de las 13 primeras etapas de su diferenciación (que definen los 13 estados del ciclo del epitelio seminífero en hamster dorado) y de la cuantificación de las etapas subsiguientes de la espermiogénesis, los resultados se englobaron sólo en la categoría de espermátidas redondas y elongadas. Las espermátidas redondas abarcan los estadios I a VII y las elongadas de I a XIII, exceptuando estadio VIII o final de la liberación de las espermátidas maduras (estado 18 para Leblond, C.F. e Y. Clermont, 1952; estado 17 para Clermont, Y. y M. Trott, 1969).

A los 25 días se reconocen espermátidas redondas en una sección circular de túbulos junto a una generación de citos en paquitenio, una de gonias In y otra de gonias A. A mayor edad, incrementan su número hasta valores de 82,18 a los 105 días de edad; aun cuando a los 35 días ya presentan un número considerable, las diferencias en los promedios son significativas (Tabla IV). Por su parte, las espermátidas elongadas aparecen a los 31 días en números muy bajos (que promedian 1,84), aun cuando valores máximos de 11-14-20 células se han concentrado en estadios IX, el cual es considerado primer estado de espermátidas elongadas. La condición general es no encontrar espermátidas elongadas (Figs. 25-26-27; 33 días de edad). Es interesante notar que aun cuando a los 35 días ha aumentado el promedio (Tabla IV), éste no iguala al estado adulto porque la aparición de espermátidas en fase de maduración no iguala en número a las espermátidas en fase acrosómica de segunda mitad del ciclo. A los 105 días promedian las 171,62 células (Tabla IV) y los valores individuales de la primera y segunda mitad del ciclo son similares. A pesar que este tipo celular presenta grandes variaciones en su forma y llegan a estar en estrecha cercanía y superponerse en los recuentos, se estimó cualquier sección de núcleos distinguible como entidad celular separada. Así, los resultados entregan una apreciación más objetiva de la aparición y posibles fluctuaciones de las espermátidas elongadas.

Si se analiza la Tabla V, se puede ver que los

31 días de edad es otro momento de gran porcentaje de células en necrosis, alcanzando un 1,4%. En esta edad se observan notoriamente afectadas las espermátidas elongadas, principalmente en su etapa de maduración.

Las variaciones que experimenta la línea de células somáticas del compartimento cordonal y tubular (preSertoli y Sertoli, respectivamente) se observan en la Tabla VI. Sus promedios crudos muestran ligeras variaciones para las preSertoli, con un aumento a los 20 días, en que culmina su aparición. Es destacable que a los 15 y 20 días se observaron secciones nucleares de pequeño tamaño con características muy semejantes a preSertoli (Figs. 16-17), que se clasificaron como tipos nucleares indefinidos. Como se observa en la Tabla V, los índices mitóticos estimados para las células de preSertoli, van en disminución hasta los 7 días.

Como se había señalado anteriormente, ya a los 20 días se observan células con núcleos característicos de Sertoli; y a partir de esta edad y hasta los 35 días presentan promedios más elevados, los que parecen estabilizarse hacia la edad adulta (105 días), en que alcanzan valores semejantes a preSertoli.

DISCUSION

A diferencia de la escasa información descriptiva y cuantitativa del desarrollo testicular en hamster, ésta abunda en otros mamíferos. Las investigaciones van desde el análisis de pesos y volúmenes testiculares; diámetro, área, longitud, volumen de cordones sexuales y túbulos seminíferos en relación a peso corporal y edad; hasta el estudio descriptivo y tipificación celular necesario que lleva en muchos trabajos a la cuantificación y cinética de la maduración gonadal y, consecuentemente, de la espermatogénesis.

Clermont, Y. y B. Perey (1957), además de hacer el estudio cuantitativo de las poblaciones celulares en túbulos seminíferos de ratas inmaduras, hace un análisis de las variaciones de los diámetros cordonales y tubulares en relación con la edad y postulan que el crecimiento de los túbulos después de los 15 días sería casi exclusivamente por aumento progresivo del número de espermátidas en el epitelio seminífero. Courrot, M.

(1962), estudiando el desarrollo testicular y el establecimiento de la espermatogénesis en el cordero, observa una relación exponencial entre el diámetro tubular y la edad, así como los pesos testiculares. Estos, a su vez, muestran una estrecha relación con el desarrollo de la espermatogénesis. Attal J. y M. Courot (1963) señalan que en toro el diámetro de los túbulos seminíferos está en relación exponencial con los pesos testiculares y la edad, con una fase de aumento lento y otra acelerada, que se inicia con la formación del lumen, como manifestación de un fenómeno importante en la evolución de los túbulos seminíferos. Estos autores indican que el aumento en longitud tiene una fase acelerada y luego una lenta, que comienza justamente al peso testicular en que el diámetro de los túbulos aumenta abruptamente. En el roedor *Octodon degus*, Morales, B. y V. Leyton (1977) hablan de una curva bifásica del diámetro cordonal, en que el diámetro de cordones fetales es mayor que en los primeros días de edad. Aun cuando señalan un aumento paulatino desde ese momento, no destacan un aumento importante en los diámetros luego de la aparición de lumen. Finalmente, Kluin *et al.* (1983) encuentran en el primate *Macaca irus* una correlación similar, con una leve expansión que ocurre en un período tan prolongado como su etapa prepuberal, seguida de un gran aumento acompañado por la formación de lumen tubular.

El presente trabajo muestra que *Mesocricetus auratus* no escapa a este interesante patrón general. Así se observan cordones más gruesos previos al nacimiento, disminución en grosor posterior al nacimiento, aumento lento y aumento notorio del diámetro en determinado momento del desarrollo. Esto coincide con los 20 días, en que aparece lumen tubular.

Vitale, R., D.W. Fawcett y M. Dym (1973), estudiando el desarrollo de la barrera hematotesticular en ratas, señala una estrecha correlación temporal entre su establecimiento (16-19 días postnatal) y la aparición de complejos de unión entre células de Sertoli; el inicio de la secreción de fluido del epitelio seminífero; la estratificación del epitelio germinal y el desarrollo de lumen en los túbulos seminíferos. Estos fenómenos sugieren que la barrera actúa como tal para el movimiento extracelular de fluidos desde la base del epitelio, precondi-

ción esencial para estos eventos. Más aún, Dym, M., H.G.M. Raj y H.E. Chemes (1977) sostienen que el lumen sirve para canalizar el fluido testicular a la rete testis y el epidídimo; como también que la presencia de un lumen tubular puede ser usado como un indicador de activa secreción por la célula de Sertoli. Todos estos antecedentes refuerzan lo señalado por Courot, M. (1962) en relación con la aparición de lumen tubular. Así entonces, la primera manifestación de lumen tubular en hamster dorado, concomitante con un aumento abrupto de diámetro tubular a los 20 días, indicaría el inmediatamente previo e importante evento de formación de la barrera hematotesticular, con todas sus consecuencias. En relación con lo anterior, no se podría dejar de especular con la posibilidad que esta apertura y comunicación con la rete testis, signifique el aporte por parte de ésta y probablemente del epidídimo de la sustancia inductora de la meiosis (MIS, Meiotic Inducting Substance) que ayude a esa función y a la mantención efectiva de la meiosis hasta su culminación con la producción de las primeras espermátidas, ya que el flujo tubular permitiría su llegada a las regiones de citos. Tal sustancia, efectivamente es producida por dichos órganos como sostienen Byskov, A.G. y J. Grinstead (1981) y Grinstead, J., A.G. Byskov y M.P. Andreasen (1979).

Un aspecto esencial en el estudio de la espermatogénesis es la caracterización de los tipos celulares comprometidos en ella; tanto las células de la línea germinal como somática. Clermont, Y. y B. Perey (1957), en fetos de rata en los últimos días de gestación y primeros días después del nacimiento, reconocen a los gonocitos como células grandes, características, en los cordones sexuales, además de células más pequeñas, correspondientes a las células de sostén. Con el desarrollo de investigaciones sobre el origen y progresión de la línea germinal, prolifera en forma paralela una heterogeneidad de conceptos para nombrar a las primeras células comprometidas en la progresión celular. Hilscher, B., *et al.* (1974-1976) tratan de unificar criterios modificando aun su propia terminología. Definen así gametogénesis como el proceso completo de desarrollo de células germinales masculinas y femeninas en tres períodos: uno pregonadal, desde la

aparición, proliferación y evolución posterior de las células germinales primordiales hasta la gónada aún no diferenciada; un período preespermatogénico, de invasión, proliferación y evolución de las precursoras de células germinales maduras definitivas en la gónada en desarrollo y el período de la espermatogénesis, en que ocurre la maduración de las células germinales. Estos autores ubican y asignan nombres a las células de la línea germinal masculina. Así, las células germinales primordiales son típicas de la primera etapa (CGP). Representan a la segunda etapa las proespermatogonias-M (PE-M, proespermatogonias en multiplicación) que proliferarían en no más de 3-4 generaciones, originando grupos sincrónicos unidos por puentes intercelulares. Estas células hijas en la última generación corresponden a las proespermatogonias-T1 (PE-T1, proespermatogonias transicionales primarias) y representarían el primer estado de transición entre PE-M y las espermatogonias A. PE-T1 entrarían en una larga interfase que dura hasta los 5 días postnatal y luego se dividen para originar proespermatogonias T2 (PE-T2, proespermatogonias de transición secundarias), las que se dividen a los 6 días postnatal para originar las gonias A. Gondos (1977) denomina a este período "diferenciación preespermatogénica" y lo subdivide en: un estado de proliferación fetal inicial (una vez que se ha colonizado la cresta gonadal); un estado quiescente, en que cesan las divisiones y un segundo estado mitótico postnatal, justo antes del inicio de la espermatogénesis. Es a partir de la aparición de las gonias A que Hilscher, W., y B. Hilscher (1976) describen el tercer período, la espermatogénesis, que subdividen en: espermatogénesis temprana, que incluye toda la secuencia de aparición de las distintas generaciones celulares hasta que "el epitelio seminífero ha sido formado"; y la espermatogénesis con la cinética propia del adulto.

En el presente trabajo se clasificaron dos tipos celulares: las proespermatogonias I (PE-1) que equivalen estrechamente a los gonocitos de rata (Clermont, Y. y B. Perey, 1957), a las células germinales primordiales o gonocitos del cordero (Courot, M., 1962) y del toro (Attal y Courot, 1963), a los gonocitos II o proespermatogonias-T1 (Hilscher *et al.*,

1974), preespermatogonias-T1 (Hilscher, W. y B. Hilscher, 1976) en rata. El segundo tipo son las preespermatogonias 2 (PE-2), que no son reconocidas para la rata según Clermont, Y. y B. Perey (1957). En cambio describen un salto directo a gonias A. Courot, M. (1962) indica estados citológicos de transición entre gonocitos y gonias A para el cordero. Attal, J. y M. Courot (1963) señalan que las gonias A se forman a partir de los gonocitos. Para Hilscher, W. y B. Hilscher (1976) un segundo tipo transicional, las PE-T2, surge por división de PE-T1. Las PE-T2 presentadas por Hilscher *et al.* (1974) se parecen bastante a PE-2 descritas en este trabajo para hamster, e incluso ocupan la misma ubicación en el epitelio. Estos autores dicen que PE-T2 se divide para originar gonias A, pero no muestra la duración de la fase S de este tipo celular. Hilscher, W. y B. Hilscher (1976) señalan que las gonias A descendientes de PE-T2 son heterogéneas.

A pesar que hamster dorado podría tener un patrón espermatogénico diferente, pareciera ser que las PE-2 (que evidentemente se originan a partir de PE-1) no sufrirían una nueva división para originar gonias A. Por el contrario, como precursoras experimentarían un proceso de citodiferenciación que daría cuenta de su heterogeneidad y al mismo tiempo de su similitud con la gonía A. Por otra parte, PE-1 se corresponde con proespermatogonia-T de hamster dorado mostrada por Wartenberg (1981); quien también destaca cambios de tamaño para PE-T2, aun cuando también son evidentes cambios citomorfológicos asociados a su migración hacia la membrana basal del cordón seminífero. El autor relaciona estos cambios con división de T2.

Una primera aproximación a la cinética de la preespermatogénesis y espermatogénesis, es la progresión o evolución de tipos celulares en el tiempo. Clermont, Y. y B. Perey (1957), ya a los 6 días de edad, encuentran gonias A, In y B; a los 9 días, citos en preleptoteno y estados tempranos de la profase meiótica; a los 15 días se han alcanzado los últimos estados de la meiosis y a los 18 días aparece una nueva generación de células. Después de los 26 días, se observó espermátidas en todos los túbulos, las que fueron progresando hasta alcanzar el estado 19 a los 45 días. Luego que cada generación celular se va integrando desde el co-

mienzo de proliferación de gonias A en asociaciones celulares que permiten vislumbrar estados del ciclo desde muy temprano, los autores concluyen que el ciclo del epitelio seminífero comienza en ese momento (6 días). Al mismo tiempo, la evolución de las generaciones celulares en la rata inmadura les permite calcular la duración de la espermatogénesis, determinando que ella es semejante a la del adulto. En el aspecto cuantitativo (Clermont, Y. y B. Pery, 1957) concluyen que una espermatogénesis cuantitativamente normal comienza muy pronto después de la producción de las gonias A por los gonocitos. Si bien Courot, M. (1962) para el carnero y Attal, J. y M. Courot (1963) para el toro, concuerdan acerca de la sincronía con que se dan las asociaciones celulares desde que se establece la espermatogénesis, discrepan cuantitativamente en que el rendimiento de los primeros ciclos espermatogénicos no es normal hasta después de un tiempo.

En hamster dorado, de la misma manera, se puede observar una progresión en el tiempo de generaciones celulares desde el momento en que aparecen las gonias A a los 15 días de edad. Esta es la única generación celular con un promedio estabilizado de células desde el inicio. Las diferentes generaciones celulares van apareciendo en el momento y lugar correspondiente para ir estructurando desde temprano asociaciones celulares con características propias del estado adulto. Por ejemplo, y a semejanza de lo planteado por Clermont, Y. y B. Pery (1957), a esta edad las gonias In, B y los citos preleptoteno, leptoteno y zigoteno no se superponen en una misma sección tubular, por el contrario, las gonias A (generación celular que está presente en toda sección circular estudiada, si bien presentan variaciones numéricas de acuerdo con el estado de diferenciación) se encuentran acompañadas de una sola de las generaciones más avanzadas.

Diez días más tarde, es decir a los 25 días, es posible observar que coexisten 3 generaciones celulares, ya que una generación de citos en paquiteno ha sido agregada a aquellas asociaciones que tienen hasta leptoteno. A esta edad, tanto las gonias como los citos en zigoteno han estabilizado la cantidad en que se presentan. En cambio, los paquitenos, por ser una etapa de la profase meiótica muy larga, están repre-

sentando a un tipo celular con distintos orígenes. Así, aquellos que se encuentran asociados a leptotenos representan a la progresión de línea germinal más antigua en el tiempo, proviniendo de números disminuidos de In y B como preleptotenos; las cuales han estado sometidas como ellas mismas a la muerte celular propio del inicio de la espermatogénesis, como lo revelan los porcentajes de necrosis. Estos paquitenos se presentan en números muy bajos, a diferencia de los que se encuentran asociados con gonias In y B, que ya muestran números aumentados, propio de la estabilización de las generaciones celulares anteriores y de la espermatogénesis establecida en el tiempo.

Consecuentemente, a los 31 días aparece una cuarta generación celular, que está representada por las espermátidas redondas y las primeras elongadas de estadio IX, aunque en bajo número. En este caso, son estos tipos celulares los que representan la avanzada en la línea germinal espermatogénica, al mismo tiempo que los paquitenos han incrementado su promedio.

Es a los 35 días que se estabiliza el número de los paquitenos, al mismo tiempo que las espermátidas redondas. A esta edad ya es evidente la quinta y última generación celular representada por las espermátidas elongadas en fase de maduración de los primeros estados del ciclo; al mismo tiempo la cuarta generación ya está establecida a partir del estadio IX del ciclo. En este momento, los números más bajos de espermátidas elongadas se presentan para las últimas fases de maduración de la espermiohistogénesis, que correspondería a la generación más avanzada en la progresión espermatogénica.

Aun cuando a los 40 días de edad se observan valores disminuidos para las espermátidas, es esperable que a partir de los 35 días estas generaciones celulares se estabilicen en sus promedios a valores similares a los presentados por los animales adultos de 105 días de edad.

Como se ha podido apreciar, a los 15 días ya hay una progresión espermatogénica inicial en que las gonias In casi presentan sus valores normales. Previamente a esta edad, a los 10 días se ha establecido un número de preespermatogonias-2, las que se han originado a partir de

PE-1. Estas PE-2 que en promedio se presentarían en número aproximado de 7 a cualquier nivel de los cordones seminíferos y que, como se adelantó, por citodiferenciación originarían a gonias A, las que podrían corresponder a A indiferenciadas que serían las precursoras inmediatas del inicio de la línea espermatogénica. Pero este proceso no debería iniciarse con la producción de gonias In a partir de este stock inicial indiferenciado a todos los niveles de los cordones. Ya Clermont, Y. y B. Perey (1957) señalan que desde el comienzo hay manifestación de un ciclo del epitelio seminífero en la rata, con aparición de determinadas asociaciones celulares. Obviamente para hamster no se están produciendo gonias In a todas las alturas de los cordones sexuales. Es probable entonces que este número de PE-2 sea redistribuido, mediado por la dinámica de Pre-Sertoli y por el probable crecimiento en longitud de los cordones que aún continuaría, puesto que no han aumentado en grosor. Esto pareciera posible, sobre todo cuando algunas de las PE-2 se ubican hacia el centro de los cordones. Luego de este reordenamiento y estableciéndose un compartimento de proliferación de gonias A indiferenciadas, ocurriría la proliferación de gonias A diferenciadas que iniciarían la línea espermatogénica. Un hecho importante es que si a los 15 días existen citos preleptoténicos y algunos leptoténicos, implica que aproximadamente 9 días antes (que es el tiempo de duración de un ciclo del epitelio seminífero en hamster dorado según Clermont, Y. y M. Trott, 1969) ya debieran estar presentes las gonias A antes mencionadas, lo cual fundamenta que las PE-2 realmente por sus características correspondan a gonias del tipo A. Esto es concordante con la similitud en sus longitudes. De acuerdo con estos antecedentes la espermatogénesis prepuberal o temprana se iniciaría entre los 7 y 10 días, si es que las gonias A1-A4 constituyen el sistema de renovación espermatogonial (Clermont, Y. y Bustos-Obregón, E., 1968); y antes de esta edad si el sistema de renovación espermatogonial está basado en una población de gonias A indiferenciadas (Huckins, C., 1971 en ratas; Oud, J.L. y D.G. de Rooij, 1977; Lok, D. *et al.*, 1982 y de Rooij D.G., D. Lok and D. Weenk, 1985 en hamster chino), autores que fundamentan la posibili-

dad de que PE-2 se corresponda con las gonias A indiferenciadas.

En cuanto a las diferencias significativas en los promedios de espermatogonias y citos a los 20 días con respecto al adulto de 105 días, es factible suponer que de alguna manera, la apertura del lumen tubular y reciente compartimentalización signifiquen un desequilibrio temporal, con muerte celular significativa, lo que en cierta medida se corresponde con los porcentajes de necrosis en alza (Tabla V).

Resumiendo, a los 15 días se presentan valores normales para gonias A y para gonias In; lo mismo que para gonias B y desde los 25 días para citos preleptoténicos, leptoténicos y zigoténicos. Desde los 35 días la cantidad de citos en paquitenio alcanza niveles comparables al adulto. A partir de los 35 días el número de espermátidas redondas está bastante aumentado pero sin alcanzar los valores observados a los 105 días. En general, si se observan los promedios celulares en su fase estabilizada, éstos muestran la progresión numérica y cualitativa esperada luego de la proliferación de las generaciones celulares que les dan origen. Esta dinámica celular de la línea germinal espermatogénica se establece desde temprano y cada generación celular va adquiriendo su equilibrio en el tiempo, dependiendo directamente de aquellas generaciones que le han precedido. El sistema espermatogénico empieza a funcionar en forma continua, lo que ha planteado el problema de su renovación; es decir, cómo es que la línea germinal es capaz de producir espermatozoides en forma sostenida al mismo tiempo que renovarse a sí misma y así evitar su depleción por diferenciación.

Uno de los modelos de renovación espermatogonial señala que el sistema de gonias A1-A4 es troncal y la gonía A4 cumple con producir las gonias In diferenciadas al mismo tiempo que nuevas gonias A1 que reinician un nuevo ciclo más tarde, y paralelamente existirían gonias A0 de reserva capaces de entrar en proliferación luego de depleción de la línea germinal por agentes que la destruyan (Clermont, Y. y E. Bustos-Obregón, 1968). Otro modelo alternativo indica que el origen de las gonias A1 no está asociado a división nodal de A4 para producir A1 e In. Se proponen tres compartimentos espermatogoniales: uno de

células troncales, en que estarían las gonias A troncales ($A_S = A$ "steni" = $A_{is} = A$ "isolated", por presentarse aisladas), capaces de dividirse periódicamente a lo largo del epitelio seminífero, manteniendo su propio número en equilibrio y dando pares de gonias que están destinadas a diferenciarse; un compartimento de proliferación en que se ubican los pares ($A_{pr} = A$ "paired") para producir cadenas irregulares de gonias alineadas ($A_{al} =$ "aligned"); y un compartimento de diferenciación en que las gonias A_{al} transformadas morfológicamente en A_I , comienzan la diferenciación gonial hasta producir los citos I (Huckins C., 1971).

Según Harvey S.C. e Y. Clermont (1964) el aumento en gonias A_I en testículo remanente luego de hemicastración ocurriría por disminución de un factor inhibitor circulante, que dejaría de reprimir la división de gonias A_0 de reserva. Para Dym, M. e Y. Clermont (1970) las gonias A_0 serían responsables de la restauración del epitelio seminífero, luego que la depleción por irradiación eliminaría el supuesto rol inhibitorio del sistema de gonias A_1 - A_4 sobre la proliferación de gonias A_0 al romperse el equilibrio entre ambos sistemas celulares, en tanto que para Huckins, C. (1971), las gonias A_0 no serían otras que las A_S o A_{is} que aumentarían su actividad mitótica regular.

Posteriormente se ha encontrado una correlación entre la producción del factor inhibitor denominado "chalona" (Clermont, Y. y A. Mauger, 1974) y la edad de ratas prepuberales, con un aumento casi lineal desde los 15 días hasta los 40 días; suponiéndose que la "chalona espermatogonial" es producida por los citos I, y que la sensibilidad de las gonias a ella cambia con la diferenciación de las células germinales, obteniéndose así una respuesta inhibitoria máxima a los 25 días de edad (Thuman, A. y E. Bustos-Obregón, 1982). Cabría preguntarse si esta inhibición de la proliferación gonial debería expresarse en reducción del número de células por sección tubular. Thuman, A. y E. Bustos-Obregón (1982), luego de una respuesta máxima a la chalona a los 25 días de edad, explican un decremento aparente en la respuesta a los 40 días debido al establecimiento de una línea de células germinales cualitativamente completa y por ende el

logro de la condición de equilibrio característico de testículos adultos normales. Bajo ese criterio, el estado de equilibrio tendría más sentido en su expresión numérica para cada generación celular y en su conjunto para la línea germinal completa. Los resultados de este trabajo indican que las gonias A aparentemente están en equilibrio desde muy temprano en el tiempo (15 días), lo mismo que las gonias I_n y B, y así sucesivamente para los otros tipos celulares, como se ha señalado anteriormente. Clermont, Y. *et al.* (1957) concluyeron que una espermatogénesis cuantitativamente normal debe comenzar muy pronto y tal vez inmediatamente después de la producción de células del tipo A por los gonocitos. Si esto ocurre, entonces el sistema de las chalona está funcionando desde muy temprano sobre un sistema gonial de reserva también ya establecido. En consecuencia, la población de células germinales más inmediata para ejercer este efecto podría ser el sistema A_1 - A_4 (Dym, M. e Y. Clermont, 1970) o bien las gonias I_n , como adelantó Brown, D. (1975) para ratas en que concomitante a un decremento en gonias I_n posthemicastración en estadios III y IV, hay un importante aumento de gonias A. Posteriormente de Rooij, D.G. *et al.* (1985) entregan antecedentes al respecto en hamster chino. Mediante el uso del agente citotóxico Ara-C, que destruye células en fase S, observa que cuando las gonias I_n son removidas diferencialmente, la proliferación de las gonias indiferenciadas no es inhibida en estadio III, como normalmente ocurre en los controles.

Finalmente, otro aspecto relacionado con la espermatogénesis prepupal es el mecanismo de inicio de la meiosis y su mantención. Una interacción finamente regulada controlaría la transformación por meiosis de células germinales diploides en haploides. Entre los mamíferos existirían dos patrones de diferenciación de células germinales en las hembras: especies con meiosis inmediata en que las células germinales entran en meiosis durante la diferenciación gonadal, ya en el período embrionario; y otras con meiosis retardada, en que en un período de longitud variable separa el momento de la diferenciación sexual del inicio de la meiosis. Las células germinales masculinas seguirían el esquema temporal y los patrones de multiplicación de sus contrapartes femeni-

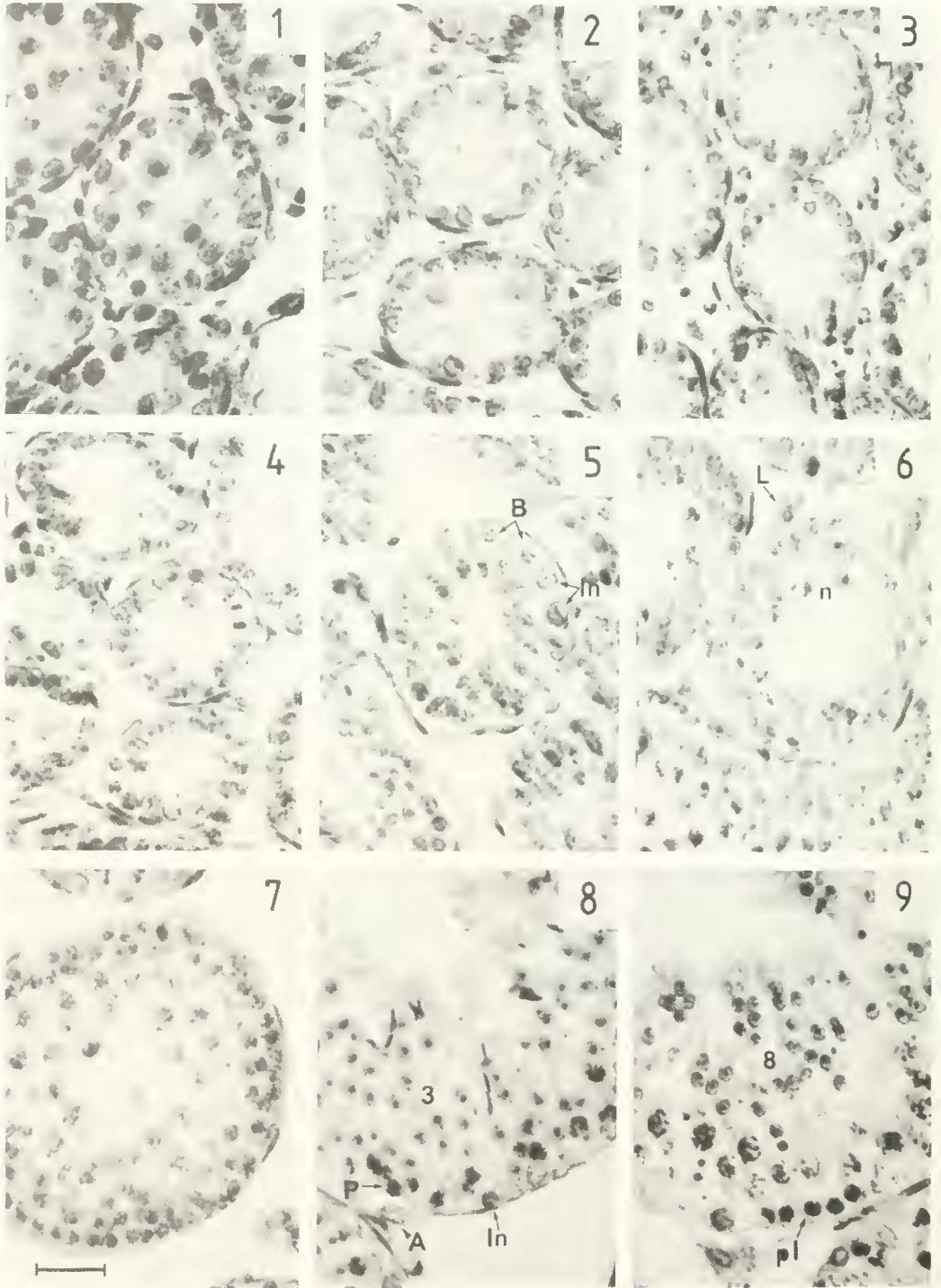
nas, de tal forma que los mecanismos que influyen la cinética mitótica y meiótica parecen operar simultáneamente en testículos y ovarios en desarrollo de la misma especie (Byskov, A.G. y J. Grinsted, 1981).

Dado el corto período de gestación del hamster dorado, se esperaría que los ovarios estén retrasados en su desarrollo, a diferencia de aquellas especies con períodos más largos de gestación. Efectivamente, se comprueba que la meiosis en hembras de hamster ocurre completamente después del nacimiento y hacia los 8 días postnatal, la mayoría de las células germinales están en profase meiótica, alcanzando hasta diploteno en folículos poliovulares (Weakley, B.S., 1967). Para especies con meiosis retardada, como el conejo y el cerdo, simultáneamente con el inicio de la meiosis en la hembra hay una actividad mitótica alta en las células germinales masculinas (Byskov, G. *et al.*, 1981). En relación con lo anterior en este trabajo los resultados señalan que el paso de PE-1 a PE-2 por actividad mitótica, estaría ocurriendo justamente en el momento en que ocurre el inicio de la meiosis en las hembras de hamster.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ASDELL, S.A. 1964. Rodentia pp.: 213-409. In: Patterns of Mammalian Reproduction. Second Ed. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. Ithaca, New York.
- AITAL, J. y M. COUROT. 1963. Development testiculaire et établissement de la spermatogénese chez le taureau. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 3(3): 219-241.
- ABERCROMBIE, M. 1946. Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.* 94: 238-248.
- BERKOWITZ, A.S. y J.J. HEINDEL. 1984. Testicular recrudescence on golden hamster (*Mesocricetus auratus*): A possible model of sexual maturation. *Endocrinology* 114 (3): 855-860.
- BROWN, D. 1975. Cinética de la proliferación espermatozoonal en ratas hemicastradas. Seminario para optar al Título de Profesor de Estado en Biología y Ciencias. Universidad de Chile, Sede La Serena.
- BUSTOS-OBREGÓN, E. 1984. Tissue Chalone, with special reference to the spermatogonial chalone, pp: 403-432. In: Regulation of Target Cell Responsiveness. Vol. 2. Ed. by K. W. McKerns, A. Aakvaag and V. Hansson. Plenum Publishing Corporation.
- BYSKOV, A.G. y J. GRINSTED. 1981. Production of Germ Cells and Regulation of Meiosis. pp.: 109-117 In: Bioregulators of Reproduction. Academic Press Inc.
- CLERMONT, Y. 1954. Cycle de l'épithélium séminal et mode de renouvellement des spermatogonies chez le hamster. *Rev. Can. Biol.* 3:208.
- CLERMONT, Y. 1972. Kinetics of spermatogenesis in mammals. Seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Rev.* 52 (1): 198-236.
- CLERMONT, Y. and E. BUSTOS-OBREGÓN. 1968. Re-examination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted "In toto". *Am. J. Anat.* 122: 237-247.
- CLERMONT, Y. y A. MAUGER. 1974. Existence of a spermatogonial chalone in the rat testis. *Cell Tissue Kinet.* 7: 165-172.
- CLERMONT, Y. and A. MAUGER. 1976. Effect of a spermatogonial chalone on the growing rat testis. *Cell Tissue Kinet.* 9: 99-104.
- CLERMONT, Y. y B. PEREY. 1957. Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *Am. J. Anat.* 100: 241-267.
- CLERMONT, Y. and M. TROTT. 1969. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the mouse and hamster determined by means of ³H-thymidine and radioautography. *Fertility Sterility.* 20: 805-817.
- COUROT, M. 1962. Développement du testicule chez l'agneau. Etablissement de la spermatogénese. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 2 (1): 25-41.
- DARROW, J.M., F.C. DAVIS, J.A. ELLIOT, M.H. STETSON, F.W. TUREK y M. MENAKER. 1980. Influence of photoperiod on reproductive development in the golden hamster. *Biol. Reprod.* 22: 443-450.
- DYM, M. e Y. CLERMONT, 1970. Role of spermatogonia in the repair of the seminiferous epithelium following X-irradiation of the rat testis. *Am. J. Anat.* 128: 265-282.
- DYM, M., H.G.M. RAJ y H.E. CHAMES, 1977. Response of the testis to selective withdrawal of LH or FSH using antigonadotropic sera. pp.: 97-124. In: The Testis in Normal and Infertile Men. Ed. by Ph. Troen and H.R. Nankin. Raven Press. N.Y.
- GONDOS, B. 1977. Testicular development. Pp. 1-80. In: The testis. Vol. IV. Chap. 1. Ed. by A.D. Johnson and W.R. Gomes. Academy Press. N.Y.
- GONDOS, B., D.C. PAUP, J. ROSS y R.A. GORSKI. 1974. Ultrastructural differentiation of Leydig

- cells in the fetal and postnatal hamster testis. *Anat. Rec.* 178: 551-566.
- GRINSTED, J., A.G. BYSKOV y M.P. ANDREASEN. 1979. Induction of meiosis in fetal mouse testis "in vitro" by rete testis tissue from pubertal mice and bulls. *J. Reprod. Fert.* 56: 653-656.
- HAFEZ, E.S.E. 1970. Hamsters. Pp. 258-272. In: *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Chap. 15. H. Magalhaes. Ed. E.S.E. Hafez. Lea and Febiger. Philadelphia.
- HARVEY, S.C. e Y. CLERMONT. 1964. Hipertrophie compensatrice du testicule chez de rats castrés ou cryptorchidémisés unilatéralement. *Proc. 32nd ACFAS Meeting*.
- HILSCHER, B., W. HILSCHER, B. BULTHOFF-OHNOLZ, U. KRAMER, A. BIRKE, H. PERZER y G. GAUSS. 1974. Kinetics of gametogenesis. I Comparative histological and autoradiographic studies of oocytes and transitional prospermatogonia during oogenesis and preespermatogenesis. *Cell Tiss. Res.* 154: 443-470.
- HILSCHER, W. y B. HILSCHER. 1976. Kinetics of the male gametogenesis. *Andrologia* 8 (2): 105-116.
- HUCKINS, C. 1971. The spermatogonial stem cell population in adult rats. I. Their morphology, proliferation and maturation. *Anat. Rec.* 169: 533-558.
- KLUIN, PH., M.F. KRAMER y D.G. DE ROOIJ. 1983. Testicular development in *Macaca irus* after birth. *Int. J. Androl.* 6: 25-43.
- LEBLOND, C.P. and Y. CLERMONT. 1952. Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the Periodic Acid-Fuchsin sulfurous acid technique. *J. Anat.* 90 (2): 167-215.
- LOK, D., D. WEENK y D.G. DE ROOIJ. 1982. Morphology, proliferation and differentiation of undifferentiated spermatogonia in the chinese hamster and the ram. *Anat. Rec.* 203: 83-99.
- MORALES, B. y V. LEYTON. 1977. Desarrollo pre y postnatal del testículo de *Octodon degus* (Molina). *Medio Ambiente* 3 (1): 91-99.
- OUJ, J.L. y D.G. DE ROOIJ. 1977. Spermatogenesis in the chinese hamster. *Anat. Rec.* 187: 113-124.
- REMANE, A., V. STORCH y U. WELSCH. 1980. Orden 10: Rodentia (Roedores). Pp.: 573-578. En: *Zoología Sistemática. Clasificación del Reino Animal*. Ed. Omega, S.A. Casanova, 220. Barcelona-36. España.
- ROOIJ, D.G. DE y M.F. KRAMER. 1968. Spermatogonial stem cell renewal in the rat, mouse and golden hamster. A study with the alkylating agent myleran. *Z. Zellforsch.* 92: 400-405.
- ROOIJ, D.G. DE, D. LOK and D. WEENK. 1985. Feedback regulation of the undifferentiated spermatogonia in the chinese hamster by the differentiating spermatogonia. *Cell Tissue Kinet.* 18: 71-81.
- THUMANN, A. y E. BUSTOS-OBREGÓN. 1982. "In vitro" Assay of rat spermatogonial chalone in prepuberal seminiferous tubules. *Andrologia* 14 (1): 35-42.
- VITALE, R., D.W. FAWCETT y M. DYM. 1973. The normal development of the blood-testis barrier and the effects of domiphene and estrogen treatment. *Anat. Rec.* 176: 333-344.
- VOMACHKA, A.J. y G.S. GREENWALD. 1979. The development of gonadotropin and steroid hormone patterns in male and female hamsters from birth to puberty. *Endocrinology* 105 (4): 960-966.
- WEAKLEY, B.S. 1967. Light and electron microscopy of developing germ cells and follicle cells in the ovary of the golden hamster: twenty-four hours before birth to eight days "post partum". *J. Anat.* 101 (3): 435-459.
- WARTENBERG, H. 1981. Differentiation and development of the testes. Pp.: 39-80. In: *The Testis*. Ed. H. Burger and D. de Kretser. Raven Press. N.Y.



LAMINA I

Microfotografías de cordones sexuales y túbulos seminíferos de testículos de hamster dorado de diferentes edades (d.p.n.=días postnatal).

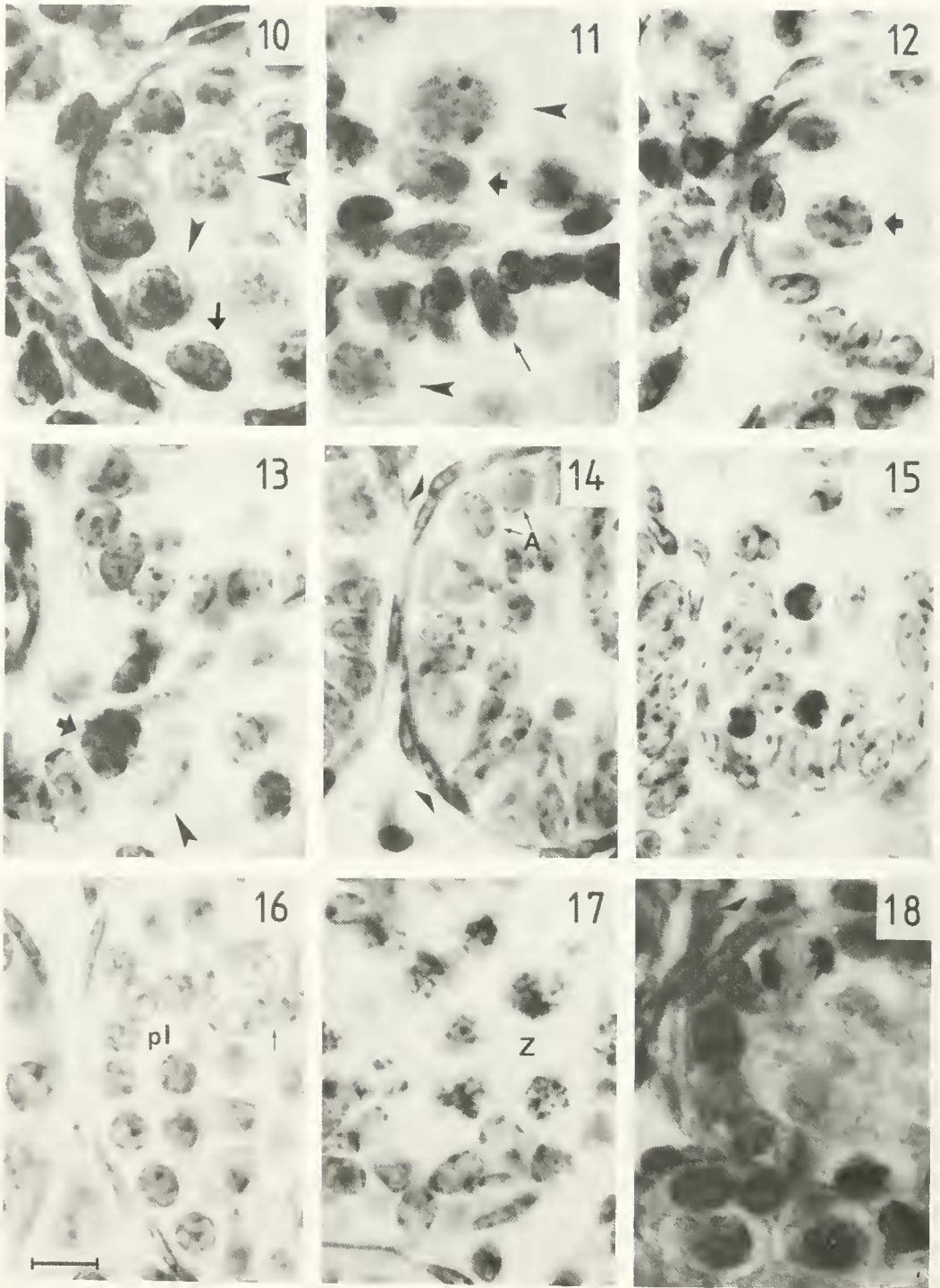
Cortes histológicos de 6 μm de espesor teñidos con hematoxilina-eosina (FIGS. 1-7) y con PAS-hematoxilina (FIGS. 8-9). Aumento: 780X. Cursor es 13 μm .

FIG. 1. Cordones sexuales a 1 d.p.n. Preespermatogonias 1 hacia el centro y células de pre-Sertoli hacia la periferia. Células peritubulares. FIG. 2. Cordones sexuales a 5 d.p.n. FIG. 3. Cordones sexuales a 7 d.p.n. FIG. 4. Cordones sexuales a 10 d.p.n. FIG. 5. Cordón sexual a 15 d.p.n. Espermatogonias In y B hacia la periferia y células de pre-Sertoli hacia el centro. FIG. 6. Túbulo seminífero a 20 d.p.n. Espermatogonias hacia la membrana basal, citos en paquiteno hacia el lumen. Núcleos de células de Sertoli con tendencia hacia la basal. En intersticio, célula de Leydig (L). Necrosis de paquiteno (n).

FIG. 7. Túbulo seminífero a 25 d.p.n. Citos preleptoteno y paquiteno. Necrosis de paquiteno.

FIG. 8. Túbulo seminífero a 35 d.p.n. Estadio III. 5 generaciones celulares. Gonias A. In; citos paquitenos y espermátidas redondas en estado 3 (fase de Golgi) y elongadas en fase de maduración.

FIG. 9. Túbulo seminífero a 105 d.p.n. Estadio VIII tardío. Se ha liberado generación más avanzada de espermátidas. Se observan cuatro generaciones celulares. Gonía A; citos preleptoteno y paquiteno y espermátidas redondas (estado 8) en fase de capuchón final.

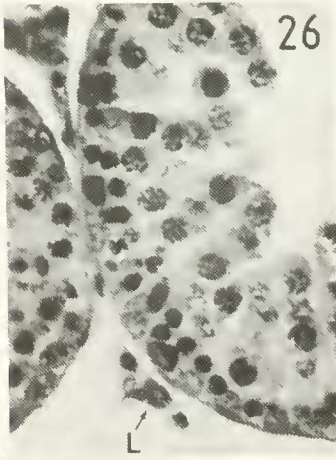
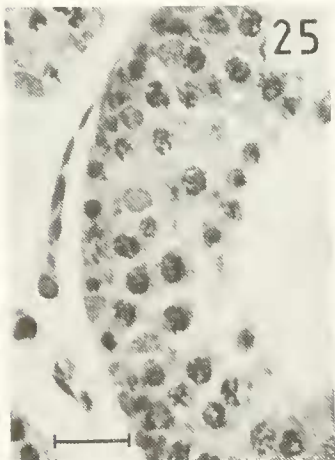
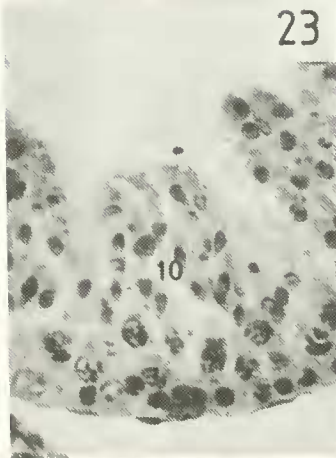
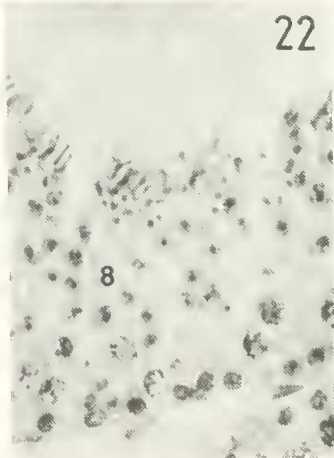
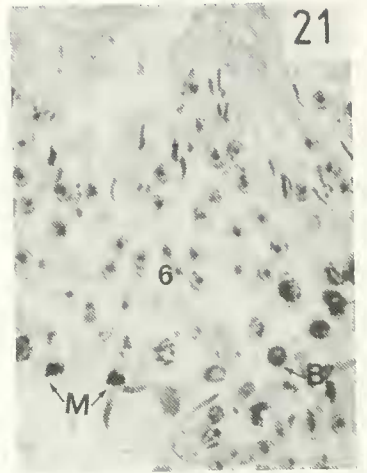
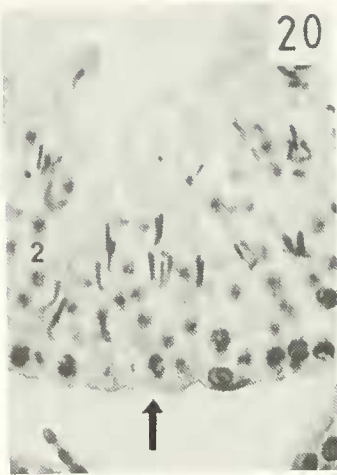
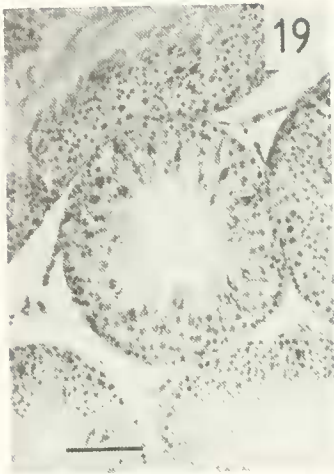


LAMINA II

Microfotografías de cordones sexuales de testículos de hamster dorado de diferentes edades (días postnatal=d.p.n.). Cortes histológicos de 6 μm de espesor, teñidos con hematoxilina-eosina (Figs. 10-13) y con PAS-hematoxilina (Figs. 14-18). Aumento: 1950X. Cursor es 5 μm .

FIG. 10. Cordón sexual a 1 d.p.n. Preespermatogonia 1 (►) y 2 (◆). FIG. 11. Cordón sexual a 5 d.p.n. Preespermatogonia 1 (►) y 2 (◆). Células de pre-Sertoli basales (→). FIG. 12. Cordón sexual a 7 d.p.n. Preespermatogonia 2 desplazada de la base del cordón. Células de pre-Sertoli basales.

FIG. 13. Cordón sexual a 10 d.p.n. Persisten preespermatogonias 1 junto con 2. Células de pre-Sertoli basales. FIG. 14. Cordón sexual a 15 d.p.n. Espermatogonias A (A). Células de pre-Sertoli desplazadas al centro del cordón. Células peritubulares voluminosas (►). FIG. 15. Cordón sexual a 15 d.p.n. 3 núcleos picnóticos entre núcleos de células pre-Sertoli. FIG. 16. Cordón sexual a 15 d.p.n. Grupo de preleptotenos en posición basal y núcleos de pre-Sertoli hacia el centro. Células peritubulares en una capa y bastante elongadas. Núcleos de células no identificadas (→). FIG. 17. Cordón sexual a 15 d.p.n. Grupo de citos en zigoteno hacia el centro del cordón. Núcleos de pre-Sertoli hacia basal. FIG. 18. Cordón sexual a 5 d.p.n. Dos núcleos en división mitótica. Preespermatogonia 1 y 2. Gran núcleo de célula peritubular en cordón superior (►).



LAMINA III

Microfotografías de túbulos seminíferos en diferentes estados del ciclo del epitelio seminífero en testículos de hamster dorado a edades avanzadas después del nacimiento. Cortes histológicos de 6 μm de espesor, teñidos con PAS-hematoxilina. Aumento: 780X (excepto Fig. 19 cuyo aumento es 195X). Cursor 13 μm . (51 μm para Fig. 19).

FIG. 19. Túbulo seminífero a 105 d.p.n. Línea germinal completa (L.G.C.). Estado XII del ciclo del epitelio seminífero.
FIG. 20. Túbulo a 105 d.p.n. Línea germinal completa. Estado II. Gonia 1n, citos en paquiteno, espermátidas redondas (estado 2) en fase de Golgi y espermátidas elongadas en fase de maduración hacia el lumen. Núcleo de célula de Sertoli.
FIG. 21. Túbulo a 105 d.p.n. línea germinal completa. Estado VI. Mitosis (M) de gonias B. Gonia A, gonias B, citos en paquiteno, espermátidas redondas (estado 6) en fase de capuchón y espermátidas elongadas en fase de maduración. FIG. 22. Túbulo a 105 d.p.n. L.G.C. Estado VIII. Gonia A, citos en preleptoteno y en paquiteno, espermátidas redondas (estado 8) en fase de capuchón y elongadas en fase de maduración hacia el lumen, junto a cuerpos residuales. FIG. 23. Túbulos a 105 d.p.n. L.G.C. Estado X. Gonia A, citos en leptoteno y paquiteno; espermátidas elongadas (estado 10) en fase acrosómica. Núcleos de células de Sertoli. FIG. 24. Túbulo a 105 d.p.n. L.G.C. Estado XIII. Gonia A, citos en diacinesis y figuras de división meiótica, manojos de espermátidas elongadas en estado 13 de fase acrosómica final. FIG. 25. Túbulos a 33 d.p.n. L.G. incompleta. Estado VII-VIII. Escasas espermátidas redondas (estado 7-8). Faltan espermátidas elongadas. FIG. 26. Túbulo a 33 d.p.n. L.G.I. Estado X-XI. Citos en paquiteno picnóticos. Faltan espermátidas elongadas. En intersticio se observan células de Leydig. FIG. 27. Túbulo a 33 d.p.n. Línea germinal incompleta. Estado XIII. Falta generación de espermátidas elongadas.